

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.15.006

贵州仡佬族和苗族人群 30 个插入/缺失位点遗传多态性分析*

刘亚举¹, 胡 萌², 石美森^{3△}, 李学博⁴

1. 河南省许昌市公安局刑事科学技术研究所, 河南许昌 461000; 2. 铁道警察学院公安技术系, 河南郑州 450053; 3. 中国政法大学刑事司法学院侦查学研究所, 北京 100192;
4. 山东省高校证据鉴识重点实验室(山东政法学院), 山东济南 250014

摘要:目的 调查贵州仡佬族和苗族人群 30 个插入/缺失(InDel)位点的遗传多态性,并评估其在法医学中的应用价值。方法 用 Investigator[®] DIPplex 试剂盒分别对贵州 220 例仡佬族和 207 例苗族无关个体外周血样进行 30 个 InDel 分型检测,统计分析各位点的频率数据、群体遗传学参数,并与其他地区人群已有数据进行比较。结果 30 个 InDel 位点经 Bonferroni 校正,其基因型分布在贵州仡佬族和苗族群体均符合 Hardy-Weinberg 平衡,且不存在连锁不平衡现象;各位点在贵州仡佬族和苗族人群中的累积个体识别率分别为 0.999 999 999 34 和 0.999 999 996 86,三联体累积非父排除率均 $\geq 0.995 6$; 30 个 InDel 位点在贵州仡佬族和苗族中均有 4 个位点的期望杂合度 < 0.3 。通过 Genepop 4.2 软件计算 F_{st} 值,除 D111(0.137 5)和 D118(0.091 1)外,其余位点均小于 0.06。从 Nei's DA 遗传距离矩阵分析发现,贵州仡佬族与成都汉族的遗传距离最小(0.001 0),贵州苗族与新疆哈萨克族的遗传距离最大(0.026 4)。结论 Investigator[®] DIPplex 试剂盒中包含的 30 个 InDel 位点在贵州仡佬族和苗族人群中具有较好的遗传多态性,可作为个体识别等特殊检案有效的补充体系。

关键词:法医遗传学; 遗传多态性; 插入/缺失位点; 仡佬族; 苗族; 贵州

中图分类号:R394.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)15-2162-08

Analysis on the genetic polymorphisms of 30 InDel loci in Gelao and Miao ethnic population in Guizhou*

LIU Yaju¹, HU Meng², SHI Meisen^{3△}, Li Xuebo⁴

1. Institute of Criminal Science and Technology, Xuchang Public Security Bureau, Xuchang, Henan 461000, China; 2. Department of Public Security Technology, Railway Police College, Zhengzhou, Henan 450053, China; 3. Institute of Investigation, Criminal Justice College of China University of Political Science and Law, Beijing 100192, China;
4. Key Laboratory of Evidence Identification in Universities of Shandong Province/ Shandong University of Political Science and Law, Jinan, Shandong 250014, China

Abstract: Objective To investigate the genetic polymorphisms of 30 insertion/deletion (InDel) loci in Gelao and Miao ethnic population of Guizhou, and to evaluate their forensic application value. **Methods** The 30 InDel typing detection in 220 Guizhou Gelao subjects and 207 Guizhou Miao unrelated individuals by using the Investigator[®] DIPplex reagent kit. The data of frequencies at each locus and population genetics parameters were statistically analyzed, and the results were compared with the existing data of the population in the other area. **Results** After the correction of 30 InDel loci by Bonferroni, the genotype distribution in Gelao and Miao ethnic population of Guizhou conformed to the Hardy-Weinberg equilibrium, moreover or the linkage disequilibrium phenomemo did not exist. The cumulative individual recognition rate of each locus in Gelao and Miao ethnic population of Guizhou was 0.999 999 999 34 and 0.999 999 996 86 respectively, the triplet cumulative non-parent exclusion rates all were $\geq 0.995 6$; among 30 InDel loci, the expected heterozygosity of 4 loci in Gelao and Miao ethnic population of Guizhou < 0.03 . In calculating the F_{st} value by using the Genepop 4.2

* 基金项目:中央高校基本科研项目(2017TJJBKY013);山东省高等学校科技计划项目(J17KA240);山东省高校青年创新团队计划项目(2019KJJE018)。

作者简介:刘亚举,男,副主任法医师,主要从事法医 DNA 检验鉴定和群体遗传学研究工作。△ 通信作者, E-mail: shimeisen2000@163.com。

本文引用格式:刘亚举,胡萌,石美森,等. 贵州仡佬族和苗族人群 30 个插入/缺失位点遗传多态性分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(15):2162-2168.

software, except for D111 (0.137 5), D118 (0.091 1), the remaining loci were less than 0.06. The Nei's DA genetic distance matrix analysis found that the genetic distance between Gelao nationality of Guizhou and Han nationality of Chengdu was the smallest (0.001 0), while which between Miao nationality of Guizhou and Kazakh nationality of Xinjiang was the greatest (0.026 4). **Conclusion** The 30 InDel loci in the Investigator DIPplex reagent kit have good genetic polymorphisms in Gelao and Miao ethnic population of Guizhou, which can serve as the an effective supplementary system for individual identification and other special cases.

Key words: forensic genetics; genetic polymorphism; insertion/deletion; Gelao ethnic population; Miao ethnic population; Guizhou

插入/缺失(InDel)多态性遗传标记是指基因组中插入或缺失不同大小的 DNA 片段所形成的多态性遗传标记。InDel 在人类基因组中分布广泛,一般平均每隔 7.2 kb 就会有一个 InDel 位点,即约 20% 的 DNA 多态性是 InDel,在法医学应用领域中,由于 InDel 具有突变率相对较低、扩增片段较小(通常 < 200 bp)的特点,适用于降解检材的分析和亲缘关系鉴定,同时 InDel 是二等位基因,不适合用于混合检材的分析,但其兼具了短串联重复序列(STR)和单核苷酸多态性(SNP)两种遗传标记的双重优点,且可以用法医 DNA 实验室的毛细管电泳平台进行基因分型检测,分型方法简便、快速、准确,易于在法医 DNA 实验室进行推广和应用。本研究针对贵州仡佬族和苗族人群常染色体上 30 个 InDel 位点的遗传多态性进行分析,评估其在法医学中的应用价值,同时为个体识别和亲权鉴定、群体间遗传分布等相关研究提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料来源 根据知情同意原则,从健康体检人群中随机采集贵州仡佬族(220 例,其中男 175 例、女 45 例)和苗族(207 例,其中男 157 例、女 50 例)无血缘关系个体外周血 0.1 mL,滴入采血卡(武汉骥腾公司),阴干后常温保存。本研究得到相关道德伦理委员会批准。

通过中国知网(www.cnki.net)和 NCBI(www.ncbi.nlm.nih.gov)数据库获得 5 个汉族[北京汉族(210 例)、河南汉族(293 例)、上海汉族(565 例)、成都汉族(129 例)、广东汉族(300 例)]和 13 个少数民族[新疆维吾尔族(223 例)、西藏藏族(226 例)、福建畲族(119 例)、四川彝族(54 例)、广西壮族(49 例)、广西侗族(50 例)、广西苗族(50 例)、四川藏族(136 例)、云南彝族(122 例)、新疆锡伯族(223 例)、湖北土家族(236 例)、新疆哈萨克族(96 例)、云南白族(125 例)]等 18 个人群的 30 个 InDel 位点等位基因频率作为群体遗传关系比较的数据。

1.2 仪器与试剂 Hamilton STAR-LET 自动化工作站(AusBio 公司,瑞士);平板离心机(Eppendorf 公司,德国);9700 型 PCR 扩增仪(AB 公司,美国);3500XL 型遗传分析仪和 ID-X 分析软件(AB 公司,美国);GeneMarker[®] HID 分析软件(SoftGenetics 公

司,美国);Investigator[®] DIPplex 试剂盒(Qiagen 公司,德国)。

1.3 方法 采用 5% Chelex-100 快速提取法提取标本 DNA。在 Eppendorf Mastercycler pro S 银座热循环仪上进行复合扩增,Investigator[®] DIPplex 试剂盒反应体系为 10 μ L,其中 Reaction Mix A 2.0 μ L, Primer Mix 2.0 μ L, Multi Taq2 DNA Polymerase 0.25 μ L, 纯水 4.75 μ L, 模板 DNA 1.0 μ L(0.5~1.0 ng/ μ L)。PCR 扩增条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,61 $^{\circ}$ C 复性 120 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 75 s,30 个循环;最后 68 $^{\circ}$ C 延伸 60 min,10 $^{\circ}$ C 保温。取 1.0 μ L 扩增产物与 DNA size standard 550(标记橙色荧光素 BTO)0.5 μ L 和 10.0 μ L 去离子甲酰胺混合,95 $^{\circ}$ C 变性 3 min 后,冰浴 3 min,置 3500XL 型遗传分析仪上进行全自动毛细管电泳,Data Collection 软件收集数据,用 GeneMarker[®] HID 分析软件进行等位基因分型,并采用 GeneMapper ID-X v1.5 分析软件复核。每批标本检测均采用 XX28 和超纯水分别作为阳性对照和阴性对照。

1.4 统计学处理 用 PowerStats v12.xls 软件统计分析 30 个 InDel 位点的等位基因频率、个体识别率(DP)、累积个体识别率(TDP)、多态信息含量(PIC)和非父排除率(PE)等法医学相关参数;采用 Cervus 3.0 软件计算三联体累积非父排除率(CPE_{trio})和二联体累积非父排除率(CPE_{duo})。采用 Arlequin v3.5 软件计算 30 个 InDel 位点的观察杂合度(H_o)和期望杂合度(H_e),并进行各位点的 Hardy-Weinberg 平衡及连锁不平衡检验;采用 Haploview 软件分析 Hardy-Weinberg 平衡 P 值。采用 GENEPOP v4.2 软件计算各群体间遗传距离和遗传分化系数(F_{st})等参数。

2 结果

2.1 贵州仡佬族和苗族人群 30 个 InDel 位点的群体遗传学参数 在贵州 220 例仡佬族和 207 例苗族无关个体血样中,Investigator[®] DIPplex 荧光检测试剂盒中的 30 个 InDel 位点都得到了有效扩增,且各位点间扩增产物平衡。经 Bonferroni 校正,30 个 InDel 位点的基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡(P>0.05),各位点的群体遗传学参数见表 1。

2.2 贵州仡佬族和苗族人群 30 个 InDel 位点的连锁不平衡检验 经 Arlequin v3.5 软件分析后发现,贵

州仡佬族和苗族人群的 30 个 InDel 位点之间相互独立,各位点间均不存在连锁不平衡现象($P > 0.05$)。采用乘积定律计算, TDP 分别为 0.999 999 999 34 和 0.999 999 996 86, CPE_{duo} 分别为 0.951 2 和 0.952 8, CPE_{trio} 分别为 0.995 6 和 0.995 7。

表 1 贵州仡佬族和苗族群体 30 个 InDel 位点的群体遗传学参数

群体	位点	F(del)	F(ins)	H _o	H _e	P _{HWE}	DP	PIC	PE _{trio}	PE _{duo}
仡佬族	HLD77	0.534 1	0.465 9	0.668 2	0.498 8	0.366 1	0.496 2	0.373 8	0.186 9	0.123 8
苗族		0.584 5	0.415 5	0.666 7	0.486 9	0.275 2	0.485 7	0.367 8	0.183 9	0.118 0
仡佬族	HLD45	0.400 0	0.600 0	0.618 2	0.481 1	0.456 6	0.525 0	0.364 8	0.182 4	0.115 2
苗族		0.405 8	0.594 2	0.676 3	0.483 4	1.000 0	0.472 4	0.366 0	0.183 0	0.116 3
仡佬族	HLD131	0.613 6	0.386 4	0.590 9	0.475 3	0.583 5	0.541 3	0.361 8	0.180 9	0.112 4
苗族		0.601 4	0.398 6	0.671 5	0.480 6	0.118 5	0.474 6	0.364 5	0.182 3	0.114 9
仡佬族	HLD70	0.443 2	0.556 8	0.677 3	0.494 7	0.897 1	0.482 8	0.371 8	0.185 9	0.121 8
苗族		0.446 9	0.553 1	0.700 5	0.495 6	0.872 6	0.458 8	0.372 2	0.186 1	0.122 2
仡佬族	HLD6	0.536 4	0.463 6	0.672 7	0.498 5	0.755 7	0.491 2	0.373 7	0.186 8	0.123 7
苗族		0.524 2	0.475 8	0.710 1	0.500 0	0.685 4	0.452 5	0.374 4	0.187 2	0.124 4
仡佬族	HLD111	0.834 1	0.165 9	0.304 5	0.277 4	0.559 3	0.442 2	0.238 5	0.119 2	0.038 3
苗族		0.768 1	0.231 9	0.425 1	0.357 1	0.372 2	0.510 3	0.292 8	0.146 4	0.063 5
仡佬族	HLD58	0.645 5	0.354 5	0.481 8	0.458 7	0.462 7	0.591 3	0.352 9	0.176 5	0.104 7
苗族		0.623 2	0.376 8	0.589 4	0.470 8	0.518 5	0.538 0	0.359 4	0.179 7	0.110 3
仡佬族	HLD56	0.459 1	0.540 9	0.609 1	0.497 8	1.000 0	0.549 3	0.373 3	0.186 7	0.123 3
苗族		0.401 0	0.599 0	0.676 3	0.481 6	0.771 3	0.470 6	0.365 0	0.182 5	0.115 4
仡佬族	HLD118	0.056 8	0.943 2	0.113 6	0.107 4	0.331 6	0.201 4	0.101 4	0.050 7	0.005 7
苗族		0.053 1	0.946 9	0.106 3	0.100 8	0.462 8	0.190 0	0.095 6	0.047 8	0.005 1
仡佬族	HLD92	0.540 9	0.459 1	0.590 9	0.497 8	0.507 1	0.563 8	0.373 3	0.186 7	0.123 3
苗族		0.582 1	0.417 9	0.690 8	0.487 7	0.537 7	0.461 5	0.368 2	0.184 1	0.118 4
仡佬族	HLD93	0.452 3	0.547 7	0.622 7	0.496 6	0.464 8	0.536 5	0.372 7	0.186 4	0.122 7
苗族		0.478 3	0.521 7	0.715 0	0.500 3	0.430 7	0.447 2	0.374 5	0.187 3	0.124 5
仡佬族	HLD99	0.109 1	0.890 9	0.209 1	0.194 8	0.483 5	0.337 9	0.175 5	0.087 7	0.018 9
苗族		0.103 9	0.896 1	0.188 4	0.186 7	1.000 0	0.321 3	0.168 8	0.084 4	0.017 3
仡佬族	HLD88	0.518 2	0.481 8	0.536 4	0.500 5	0.346 3	0.604 2	0.374 7	0.187 3	0.124 7
苗族		0.553 1	0.446 9	0.565 2	0.495 6	0.350 1	0.580 4	0.372 2	0.186 1	0.122 2
仡佬族	HLD101	0.593 2	0.406 8	0.586 4	0.483 7	0.522 1	0.553 3	0.366 2	0.183 1	0.116 5
苗族		0.618 4	0.381 6	0.521 7	0.473 1	0.146 3	0.585 4	0.360 6	0.180 3	0.111 4
仡佬族	HLD67	0.327 3	0.672 7	0.490 9	0.441 4	0.123 8	0.569 8	0.343 4	0.171 7	0.097 0
苗族		0.338 2	0.661 8	0.599 0	0.448 7	0.336 1	0.508 4	0.347 4	0.173 7	0.100 2
仡佬族	HLD83	0.575 0	0.425 0	0.713 6	0.489 9	0.712 8	0.438 5	0.369 3	0.184 7	0.119 4
苗族		0.594 2	0.405 8	0.705 3	0.483 4	0.461 2	0.441 4	0.366 0	0.183 0	0.116 3
仡佬族	HLD114	0.702 3	0.297 7	0.568 2	0.419 1	0.339 3	0.502 1	0.330 7	0.165 4	0.087 4
苗族		0.710 1	0.289 9	0.550 7	0.412 7	0.335 6	0.507 5	0.326 9	0.163 5	0.084 8
仡佬族	HLD48	0.606 8	0.393 2	0.550 0	0.478 3	0.808 6	0.573 4	0.363 3	0.181 7	0.113 9
苗族		0.591 8	0.408 2	0.613 5	0.484 3	0.267 2	0.532 1	0.366 4	0.183 2	0.116 7
仡佬族	HLD124	0.477 3	0.522 7	0.618 2	0.500 1	0.151 3	0.543 9	0.374 5	0.187 2	0.124 5
苗族		0.461 4	0.538 6	0.710 1	0.498 2	0.436 8	0.450 7	0.373 5	0.186 8	0.123 5
仡佬族	HLD122	0.781 8	0.218 2	0.409 1	0.342 0	0.418 6	0.499 2	0.283 0	0.141 5	0.058 2

续表 1 贵州仡佬族和苗族群体 30 个 InDel 位点的群体遗传学参数

群体	位点	F(del)	F(ins)	H _o	H _e	P _{HWE}	DP	PIC	PE _{trio}	PE _{duo}
苗族		0.797 1	0.202 9	0.328 5	0.324 2	1.000 0	0.490 1	0.271 1	0.135 6	0.052 3
仡佬族	HLD125	0.584 1	0.415 9	0.622 7	0.487 0	0.811 2	0.526 9	0.367 8	0.183 9	0.118 0
苗族		0.531 4	0.468 6	0.715 0	0.499 2	0.433 6	0.446 2	0.374 0	0.187 0	0.124 0
仡佬族	HLD64	0.200 0	0.800 0	0.372 7	0.320 7	0.458 9	0.484 3	0.268 8	0.134 4	0.051 2
苗族		0.241 5	0.758 5	0.463 8	0.367 2	0.263 5	0.507 5	0.299 3	0.149 6	0.067 1
仡佬族	HLD81	0.170 5	0.829 5	0.277 3	0.283 5	0.285 8	0.444 8	0.242 8	0.121 4	0.040 0
苗族		0.176 3	0.823 7	0.343 0	0.291 1	0.177 3	0.457 0	0.248 3	0.124 1	0.042 2
仡佬族	HLD136	0.513 6	0.486 4	0.663 6	0.500 8	0.370 3	0.502 6	0.374 8	0.187 4	0.124 8
苗族		0.562 8	0.437 2	0.642 5	0.493 3	0.303 9	0.515 4	0.371 0	0.185 5	0.121 1
仡佬族	HLD133	0.575 0	0.425 0	0.704 5	0.489 9	0.466 4	0.448 7	0.369 3	0.184 7	0.119 4
苗族		0.623 2	0.376 8	0.628 0	0.470 8	0.335 6	0.506 1	0.359 4	0.179 7	0.110 3
仡佬族	HLD97	0.590 9	0.409 1	0.600 0	0.484 6	0.437 0	0.543 5	0.366 6	0.183 3	0.116 9
苗族		0.550 7	0.449 3	0.570 0	0.496 1	0.135 8	0.577 5	0.372 4	0.186 2	0.122 4
仡佬族	HLD40	0.343 2	0.656 8	0.559 1	0.451 9	0.618 8	0.541 0	0.349 2	0.174 6	0.101 6
苗族		0.398 6	0.601 4	0.642 5	0.480 6	0.338 6	0.502 7	0.364 5	0.182 3	0.114 9
仡佬族	HLD128	0.670 5	0.329 5	0.604 5	0.442 9	0.808 6	0.498 2	0.344 3	0.172 1	0.097 6
苗族		0.623 2	0.376 8	0.686 0	0.470 8	0.459 3	0.449 8	0.359 4	0.179 7	0.110 3
仡佬族	HLD39	0.788 6	0.211 4	0.368 2	0.334 2	0.157 9	0.498 2	0.277 8	0.138 9	0.055 6
苗族		0.770 5	0.229 5	0.449 3	0.354 5	0.268 7	0.500 1	0.291 1	0.145 6	0.062 5
仡佬族	HLD84	0.202 3	0.797 7	0.350 0	0.323 5	0.294 6	0.489 0	0.270 6	0.135 3	0.052 1
苗族		0.144 9	0.855 1	0.231 9	0.248 4	0.395 4	0.399 1	0.217 1	0.108 6	0.030 7

注: F(del)为缺失等位基因频率; F(ins)为插入等位基因频率; P_{HWE}为 Hardy-Weinberg 平衡的 P 值。

2.3 贵州仡佬族和苗族与其他群体的遗传分化系数 F_{st} 及遗传距离 应用本研究获得的 30 个 InDel 位点基因频率数据分析了贵州仡佬族和苗族人群与 18 个比较群体的 Nei's DA 遗传距离, 见表 2; 通过缺失频

率进行计算的 20 个群体之间的遗传分化系数 F_{st} 值, 见表 3。结果显示, 仡佬族和苗族与成都汉族的遗传距离较近, 分别与新疆维吾尔族和哈萨克族的遗传距离较远。

表 2 贵州仡佬族、苗族群体与其他 18 个群体的遗传距离

群体	贵州苗族	贵州仡佬族	群体	贵州苗族	贵州仡佬族	群体	贵州苗族	贵州仡佬族
贵州苗族	—	—	新疆维吾尔族	0.025 8	0.027 3	广西苗族	0.014 9	0.014 2
贵州仡佬族	0.005 2	—	西藏藏族	0.016 8	0.011 2	云南彝族	0.021 5	0.015 7
北京汉族	0.011 4	0.003 9	福建畲族	0.012 9	0.007 6	云南白族	0.008 9	0.003 8
河南汉族	0.009 7	0.003 9	四川藏族	0.014 4	0.008 3	新疆锡伯族	0.008 4	0.003 8
上海汉族	0.009 0	0.002 6	四川彝族	0.009 7	0.004 0	湖北土家族	0.009 4	0.003 7
成都汉族	0.004 4	0.001 0	广西壮族	0.007 6	0.005 4	新疆哈萨克族	0.026 4	0.025 3
广东汉族	0.008 5	0.003 7	广西侗族	0.020 3	0.013 8			

注: —表示无数据。

表 3 30 个 InDel 遗传标记在 20 个群体中的遗传分化系数 F_{st} 值

位点	贵州苗族	贵州仡佬族	北京汉族	河南汉族	上海汉族	成都汉族	广东汉族
HLD77	0.585	0.534	0.505	0.522	0.519	0.562	0.568
HLD45	0.406	0.400	0.421	0.391	0.386	0.426	0.367
HLD131	0.601	0.614	0.664	0.608	0.653	0.651	0.663
HLD70	0.447	0.443	0.414	0.386	0.436	0.388	0.432
HLD6	0.524	0.536	0.531	0.517	0.529	0.527	0.552
HLD111	0.768	0.834	0.907	0.901	0.916	0.903	0.895

续表 3 30 个 InDel 遗传标记在 20 个群体中的遗传分化系数 F_{st} 值

位点	贵州苗族	贵州仡佬族	北京汉族	河南汉族	上海汉族	成都汉族	广东汉族
HLD58	0.623	0.645	0.662	0.608	0.604	0.585	0.533
HLD56	0.401	0.459	0.474	0.476	0.480	0.488	0.507
HLD118	0.053	0.057	0.086	0.070	0.063	0.062	0.080
HLD92	0.582	0.541	0.529	0.585	0.557	0.624	0.500
HLD93	0.478	0.452	0.398	0.469	0.453	0.399	0.440
HLD99	0.104	0.109	0.124	0.119	0.130	0.120	0.115
HLD88	0.553	0.518	0.448	0.439	0.485	0.574	0.493
HLD101	0.618	0.593	0.502	0.515	0.532	0.57	0.527
HLD67	0.338	0.327	0.340	0.283	0.317	0.279	0.278
HLD83	0.594	0.575	0.619	0.642	0.639	0.632	0.640
HLD114	0.710	0.702	0.688	0.735	0.728	0.705	0.755
HLD48	0.592	0.607	0.598	0.592	0.614	0.616	0.612
HLD124	0.461	0.477	0.417	0.406	0.458	0.461	0.488
HLD122	0.797	0.782	0.726	0.759	0.761	0.744	0.802
HLD125	0.531	0.584	0.617	0.672	0.642	0.589	0.618
HLD64	0.242	0.200	0.202	0.176	0.165	0.186	0.160
HLD81	0.176	0.170	0.119	0.145	0.177	0.198	0.205
HLD136	0.563	0.514	0.426	0.457	0.477	0.535	0.528
HLD133	0.623	0.575	0.633	0.647	0.640	0.605	0.650
HLD97	0.551	0.591	0.674	0.655	0.663	0.640	0.638
HLD40	0.399	0.343	0.310	0.329	0.284	0.333	0.295
HLD128	0.623	0.670	0.710	0.666	0.684	0.671	0.658
HLD39	0.771	0.789	0.871	0.877	0.874	0.860	0.905
HLD84	0.145	0.202	0.283	0.263	0.254	0.217	0.202
位点	新疆维吾尔族	西藏藏族	福建畲族	四川藏族	四川彝族	广西壮族	广西侗族
HLD77	0.536	0.511	0.517	0.570	0.481	0.663	0.640
HLD45	0.388	0.332	0.340	0.335	0.435	0.378	0.340
HLD131	0.538	0.558	0.655	0.636	0.593	0.755	0.740
HLD70	0.348	0.416	0.504	0.474	0.352	0.418	0.420
HLD6	0.428	0.502	0.605	0.529	0.565	0.500	0.580
HLD111	0.688	0.925	0.874	0.915	0.898	0.847	0.850
HLD58	0.594	0.710	0.605	0.684	0.722	0.551	0.480
HLD56	0.365	0.378	0.458	0.419	0.380	0.480	0.540
HLD118	0.080	0.401	0.086	0.139	0.118	0.037	0.102
HLD92	0.509	0.577	0.555	0.551	0.583	0.480	0.530
HLD93	0.435	0.412	0.361	0.434	0.398	0.541	0.380
HLD99	0.316	0.199	0.113	0.228	0.213	0.112	0.170
HLD88	0.509	0.363	0.429	0.364	0.426	0.459	0.380
HLD101	0.518	0.511	0.618	0.511	0.528	0.571	0.640
HLD67	0.475	0.400	0.214	0.393	0.269	0.255	0.170
HLD83	0.659	0.712	0.718	0.618	0.593	0.633	0.530
HLD114	0.664	0.679	0.744	0.776	0.676	0.755	0.800
HLD48	0.529	0.558	0.622	0.603	0.639	0.551	0.570

续表 3 30 个 InDel 遗传标记在 20 个群体中的遗传分化系数 F_{st} 值

位点	贵州苗族	贵州仡佬族	北京汉族	河南汉族	上海汉族	成都汉族	广东汉族
HLD124	0.415	0.467	0.487	0.485	0.444	0.459	0.490
HLD122	0.623	0.664	0.857	0.772	0.833	0.867	0.790
HLD125	0.496	0.549	0.601	0.588	0.657	0.561	0.600
HLD64	0.251	0.148	0.134	0.154	0.130	0.102	0.090
HLD81	0.287	0.150	0.206	0.140	0.157	0.286	0.190
HLD136	0.475	0.418	0.412	0.456	0.500	0.551	0.490
HLD133	0.608	0.577	0.689	0.669	0.611	0.520	0.680
HLD97	0.630	0.754	0.630	0.754	0.556	0.633	0.770
HLD40	0.498	0.438	0.286	0.393	0.444	0.388	0.260
HLD128	0.561	0.648	0.689	0.691	0.741	0.633	0.770
HLD39	0.621	0.772	0.903	0.805	0.880	0.888	0.930
HLD84	0.345	0.285	0.181	0.327	0.278	0.163	0.120
位点	广西苗族	云南彝族	云南白族	新疆锡伯族	湖北土家族	新疆哈萨克族	F_{st}
HLD77	0.650	0.680	0.560	0.484	0.536	0.538	0.013 2
HLD45	0.250	0.344	0.392	0.368	0.347	0.280	0.009 0
HLD131	0.630	0.713	0.572	0.686	0.665	0.549	0.014 8
HLD70	0.470	0.484	0.356	0.383	0.436	0.412	0.007 4
HLD6	0.650	0.623	0.520	0.457	0.532	0.418	0.012 7
HLD111	0.870	0.922	0.888	0.877	0.909	0.709	0.137 5
HLD58	0.530	0.623	0.616	0.700	0.597	0.588	0.015 7
HLD56	0.490	0.578	0.436	0.401	0.449	0.412	0.011 8
HLD118	0.020	0.111	0.108	0.085	0.044	0.346	0.091 1
HLD92	0.630	0.582	0.536	0.518	0.544	0.445	0.007 9
HLD93	0.450	0.307	0.460	0.379	0.441	0.407	0.009 6
HLD99	0.210	0.160	0.200	0.157	0.136	0.390	0.037 4
HLD88	0.400	0.426	0.472	0.422	0.447	0.412	0.012 9
HLD101	0.630	0.504	0.552	0.511	0.534	0.456	0.009 7
HLD67	0.190	0.295	0.328	0.285	0.246	0.429	0.026 8
HLD83	0.640	0.492	0.620	0.594	0.619	0.648	0.010 8
HLD114	0.820	0.754	0.816	0.679	0.765	0.571	0.016 8
HLD48	0.620	0.631	0.636	0.592	0.557	0.555	0.003 9
HLD124	0.550	0.406	0.464	0.413	0.417	0.418	0.005 4
HLD122	0.860	0.754	0.760	0.726	0.767	0.637	0.023 9
HLD125	0.510	0.574	0.548	0.592	0.648	0.533	0.009 3
HLD64	0.100	0.102	0.132	0.235	0.140	0.308	0.022 8
HLD81	0.200	0.115	0.140	0.157	0.169	0.302	0.017 9
HLD136	0.700	0.648	0.488	0.457	0.472	0.511	0.019 7
HLD133	0.710	0.676	0.612	0.594	0.638	0.549	0.009 4
HLD97	0.640	0.684	0.684	0.626	0.661	0.637	0.014 0
HLD40	0.420	0.430	0.384	0.377	0.326	0.467	0.018 3
HLD128	0.750	0.852	0.748	0.639	0.650	0.593	0.019 3
HLD39	0.890	0.906	0.832	0.848	0.883	0.775	0.037 2
HLD84	0.180	0.209	0.300	0.197	0.239	0.297	0.020 5

注:各群体下方数据为相应位点的缺失频率,通过缺失频率计算 20 个群体之间的遗传分化系数 F_{st} 值。

3 讨 论

贵州是个多民族省份,现有少数民族 49 个,世居 17 个。仡佬族是贵州最古老的民族之一,且贵州是仡佬族的发源地。贵州仡佬族和苗族人口分别占全国同一民族总人口的 97% 和 50% 以上,分属于汉藏语系的壮侗语族和苗瑶语族。目前,国内外学者对仡佬族和苗族白细胞抗原(HLA-G)、线粒体 DNA 和 STR 等遗传标记的多态性进行了研究^[1-8],而本研究对 427 例仡佬族和苗族健康无关个体的 30 个 InDel 位点的遗传多态性进行分析,同时探讨其与其他群体之间的遗传学关系,有助于分析 InDel 遗传标记在不同民族或同一民族不同群体间的遗传、进化的相互关系,为科学应用 InDel 遗传标记提供理论基础。

Hardy-Weinberg 遗传平衡检验结果一方面可以反映基因分型的质量,另一方面也反映研究对象的代表性是否较好。本研究结果显示,经过 Bonferroni 法校正,30 个 InDel 位点的基因型频率分布在贵州仡佬族和苗族群体中符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,说明贵州仡佬族和苗族群体在符合随机采样的情况下,群体中个体的基因频率可从一代传到另一代且维持不变,保持遗传的平衡稳定性,本次标本随机性和采集数目符合统计学要求。连锁不平衡检验结果表明,30 个 InDel 位点在贵州仡佬族和苗族群体中不存在连锁不平衡现象($P > 0.05$),提示这些位点是相互独立的遗传标记,可以应用于法医学鉴定。

本研究根据 30 个 InDel 位点的等位基因频率进行了贵州仡佬族和苗族与其他群体的遗传距离分析,结果显示,贵州仡佬族和苗族与成都汉族的遗传距离较近,分别与新疆维吾尔族和哈萨克族的遗传距离较远。刘亚举等^[7-8]基于常染色体 STR 和 Y-STR 遗传标记研究了仡佬族和苗族的遗传结构及与其他群体的遗传关系,发现仡佬族和苗族与湖北、湖南、重庆汉族有较近的遗传距离,与西藏藏族、甘肃裕固族、青海藏族有较远的遗传距离。李彬彬等^[3]和姚永刚等^[9]调查线粒体 DNA 9bp 缺失频率,结果发现仡佬族为 25%、苗族为 32.4%,与目前认为南方民族人群的缺失频率高于北方民族人群的观点是一致的^[9]。何燕等^[5]基于贵州苗族等人群的线粒体 DNA 多态性研究表明,组成“南方谱系”的 B、M7、N9、R9 等在贵州苗族等 3 个民族中频率为 51.22%,同时构建了 20 个人群 mtDNA 单倍群频率主成分,分析结果表明贵州苗族是南方民族。刘烜等^[10]研究了贵州仡佬族等贵州境内多个民族个体外周血标本 Y 染色体单核苷酸多态(Y-SNP),其中仡佬族 H8 单倍型(M134)和苗族 H8(M134)、H11(M95)、H12(M88)频率较高,也表明仡佬族和苗族均是南方民族。这些研究表明,InDel 作为遗传标记物,以等位基因频率计算遗传距离可用于群体遗传学的研究,和地域实际的物理距离区分度

相似,与民族的起源、进化、迁徙的研究数据结果一致^[11-12]。

遗传分化系数 F_{st} 值是进行群体间遗传分化概括分析最常用的方法之一,是评价基因座等位基因频率在群体间的分布差异程度。WRIGHT 认为群体间 F_{st} 值在 0.00~<0.05 表示群体间不存在分化, F_{st} 值在 0.05~<0.15 则为中度分化, F_{st} 值在 0.15~0.25 则为高度分化, F_{st} 值 >0.25 则分化度极大。WEI 等^[13]对中国汉族、藏族、维吾尔族和哈萨克族群体 30 个 InDel 位点的 F_{st} 分析结果显示,HLD111 和 HLD118 位点遗传分化贡献率相对较高。LARUE 等^[14]对北美地区的非洲裔、高加索人、亚裔和西南部西班牙裔的 F_{st} 分析结果也证实,HLD111 和 HLD118 等位点遗传分化贡献率相对较高。本研究中,HLD111 和 HLD118 位点 F_{st} 值分别为 0.137 5、0.091 1,在 20 个群体中遗传分化贡献率相对较高,提示这两个位点在不同民族,尤其是不同人种中基因型分布有很大的差异,反映群体差异性大,在群体遗传学和种群识别方面有重要的应用价值。

综上所述,由于贵州仡佬族和苗族大多在偏远地区聚族而居,生活环境相对封闭,各民族之间隔离程度较高,民族特异性保存较好,这些遗传特性成为人类遗传多样性的重要组分,可作为遗传学上很好的研究材料。这些民族的遗传物质是全人类遗传多样性的重要组成部分,研究这些民族的起源和进化对于探索中华民族乃至东亚人群的起源也具有重要意义。

参考文献

- [1] 孙倩倩,黎明,孙良先,等.水族和仡佬族 HLA-G 基因 14bp 插入/缺失多态性与其遗传背景的相互关系[J].中国优生与遗传杂志,2013,21(11):11-14.
- [2] 何燕,赵孝梅,左娅,等.贵州省 3 个少数民族 HLA-G 基因 14 bp 插入/缺失的多态性研究[J].贵阳医学院学报,2015,40(3):217-221.
- [3] 李彬彬,钟复光,易红生,等.贵州 4 个民族人群线粒体 DNA 编码区的多态性[J].中国比较医学杂志,2010,20(3):8-11.
- [4] 任凌雁,何燕,张婷,等.贵州 9 个少数民族线粒体 DNA Region V 及 Y 染色体 DYS287 位点多态性研究[J].中山大学学报(自然科学版),2013,52(4):121-124.
- [5] 何燕,单可人,任凌雁,等.贵州苗族、布依族、侗族人群线粒体 DNA 多态性研究[J].生物技术,2014,24(1):61-66.
- [6] 刘亚举,龙飞,李瑾,等.19 个 X-STR 基因座在中国 3 个民族的遗传学调查及法医学应用[J].基础医学与临床,2018,38(7):913-921.
- [7] 刘亚举,郭利红,岳俊涛,等.27 个 Y-STR 基因座在中国 3 个民族的遗传多态性及与其他 13 个群体的聚类分析[J].检验医学与临床,2020,17(5):577-581. (下转第 2172 页)

麻疹较为严重患者的皮疹和正常皮肤部位取组织进行病理检查,均可见到大量 EOS;推测皮肤和黏膜反应剧烈的患者中大量 EOS 被招募到皮肤、黏膜,导致外周血 EOS 计数减少^[14]。(2)自身免疫反应。患者血清中可能存在 EOS 的抗体。有研究显示,在动物模型中注射 EOS 计数减少患者的血清后,动物外周血 EOS 计数减少并持续长达 12 个月^[15]。笔者团队需要进一步研究外周血 EOS 计数减少现象背后的具体机制,以期找到新的治疗靶点。

综上所述,本研究显示病情严重的急性荨麻疹住院患者在发病期存在外周血 EOS 计数减少的现象;外周血 EOS 计数减少的患者,全身症状更加明显,WBC、NEUT、CRP 水平升高明显,低 T3 综合征发病率高。鉴于外周血 EOS 检测简便易行,本研究可能帮助临床进一步完善急性荨麻疹患者的诊疗体系,造福患者。

参考文献

- [1] KARAKONSTANTIS S, KALEMAKI D, TZAGKARAKIS E, et al. Pitfalls in studies of eosinopenia and neutrophil-to-lymphocyte count ratio[J]. *Infect Dis*, 2018, 50(3): 163-174.
- [2] FOLCI M, HEFFLER E, CANONICA G W, et al. Cutting edge: biomarkers for chronic spontaneous urticaria[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018: 5615109.
- [3] 董达科, 杨莉佳, 潘展视. 急性荨麻疹住院患者 30 例甲状腺功能回顾分析[J]. *中华皮肤科杂志*, 2016, 49(3): 176-179.
- [4] 蔡德丰, 陆元善, 袁艳, 等. 儿童急、慢性荨麻疹 IgE 及嗜酸性粒细胞检测分析[J]. *检验医学*, 2014, 29(11): 1120-1123.
- [5] 朱宇. IgE 嗜酸性粒细胞在慢性荨麻疹患者中的检测及其临床意义[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(11): 2887-2888.
- [6] 周琼艳, 林薇, 许素玲, 等. 嗜酸性粒细胞和 IgE 在过敏性

皮肤病中的意义[J]. *现代实用医学*, 2020, 32(2): 64-66.

- [7] 易斌, 曾俊萍. 血清总 IgE 和嗜酸性粒细胞检测在过敏性皮肤病中的临床意义[J]. *实用预防医学*, 2011, 18(8): 1400-1403.
- [8] KOLKHIR P, CHURCH M K, ALTRICHTER S, et al. Eosinopenia, in chronic spontaneous urticaria, is associated with high disease activity, autoimmunity, and poor response to treatment[J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2020, 8(1): 318-321.
- [9] 陈玉迪, 耿鹏, 赵嘉惠, 等. 慢性自发性荨麻疹: 奥马珠单抗治疗作用机制与疗效评估[J]. *中华皮肤科杂志*, 2019, 52(9): 652-655.
- [10] MONFORT J B, MOGUELET P, AMSLER E, et al. What is neutrophilic urticaria[J]. *Ann Dermatol Venereol*, 2019, 146(5): 346-353.
- [11] KARAMAN S, TUREDI B. Neutrophil-lymphocyte ratio: a possible marker of remission in children with chronic spontaneous urticaria[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2020, 48(3): 290-294.
- [12] KOLKHIR P, ALTRICHTER S, HAWRO T, et al. C-reactive protein is linked to disease activity, impact, and response to treatment in patients with chronic spontaneous urticaria[J]. *Allergy*, 2018, 73(4): 940-948.
- [13] BUNEVICIUS A, IERVASI G, BUNEVICIUS R. Neuroprotective actions of thyroid hormones and low-T3 syndrome as a biomarker in acute cerebrovascular disorders[J]. *Expert Rev Neurother*, 2015, 15(3): 315-326.
- [14] FUJISAWA D, KASHIWAKURA J I, KITA H, et al. Expression of Mas-related gene X2 on mast cells is up-regulated in the skin of patients with severe chronic urticaria[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134(3): 622-633.
- [15] FRANKLIN W, GOETZL E J. Total absence of eosinophils in a patient with an allergic disorder[J]. *Ann Intern Med*, 1981, 94(3): 352-353.

(收稿日期: 2020-11-18 修回日期: 2021-05-17)

(上接第 2168 页)

- [8] 刘亚举, 李瑾, 孙现锋, 等. 贵州仡佬族和苗族人群 24 个 STR 基因座的遗传多态性及与其他民族之间的关系[J]. *解放军医学杂志*, 2019, 44(3): 161-166.
- [9] 姚永刚, 袁志刚, 周曾娣, 等. 中国民族人群线粒体 DNA 9bp 序列缺失的分布[J]. *自然科学进展*, 2001, 11(4): 343-359.
- [10] 刘烜, 单可人, 齐晓岚, 等. 贵州布依族、仡佬族、侗族、毛南族、壮族 Y-SNP 的初步研究[J]. *遗传*, 2006, 28(11): 1350-1354.
- [11] 李生斌. 中华民族遗传结构与亲缘关系[M]. 西安: 西安交通大学出版社, 2016.

[12] 李辉, 金力. Y 染色体与东亚族群演化[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2015.

- [13] WEI Y L, QIN C J, DONG H, et al. A validation study of a multiplex INDEL assay for forensic use in four Chinese populations[J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2014, 9: e22-e25.
- [14] LARUE B L, GE J, KING J L, et al. A validation study of the Qiagen Investigator DIPplex[®] kit, an INDEL-based assay for human identification[J]. *Int J Legal Med*, 2012, 126(4): 533-540.

(收稿日期: 2020-09-22 修回日期: 2021-02-16)